

Das Verhalten der Oestrogenfraktionen im
Harn während der Proliferations- und der
Sekretionsphase des Zyklus

von

SUSANNE ZELLER

1961

Aus der I. Frauenklinik und Hebammenschule der
Universität München
Direktor: Professor Dr. med. W. Bickenbach

DAS VERHALTEN DER OESTROGENFRAKTIONEN IM HARN WÄHREND
DER PROLIFERATIONS- UND DER SEKRETIONSPHASE DES ZYKLUS.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
S u s a n n e Z e l l e r
aus Bönningheim

1961



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München.

Referent: Privatdozent Dr. R. Kaiser
Correferent: Professor Dr. W. Bickenbach
Dekan: Professor Dr. Dr. H. Eyer

Tag der mündlichen Prüfung: 7. 3. 1961

Meinen Eltern gewidmet

Einleitung.

In der Zyklusforschung gilt auch heute noch das besondere Interesse den Oestrogenen, ihrer Produktion, Ausscheidung und auch den Möglichkeiten ihrer therapeutischen Anwendung.

Untersuchungen der letzten Jahre ist es zu verdanken, daß man aus der Oestrogenausscheidung im Harn weitgehende Rückschlüsse auf die Funktion des Ovarium ziehen und damit normale und pathologische Vorgänge erfassen konnte.

Es war die Aufgabe dieser Arbeit, mit einem exakten Verfahren zur Oestrogenbestimmung das Verhalten aller drei Oestrogenfraktionen vor und nach der Ovulation miteinander zu vergleichen.

Es ist bekannt, daß die Produktion des Progesterons in der Follikelphase nur sehr gering ist und, abgesehen vom Reifefollikel, vermutlich aus der Nebennierenrinde stammt. Ob jedoch das Ovarium während der Corpus-luteum-Phase mehr oder weniger Oestrogene produziert als vor dem Follikelsprung, steht bis jetzt noch nicht eindeutig fest.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stellen einen Beitrag zu diesem Problem dar.

Inhalt.

I. Allgemeiner Teil.

1. Chemische Struktur, Bildungsstätten, Wirkung und Stoffwechsel der Oestrogene.
2. Die Oestrogenkonzentration im Harn und im Blut bei der geschlechtsreifen Frau.

II. Methodik.

1. Biologische Bestimmungsmethoden.
2. Chemische Bestimmungsmethoden.
3. Angewandte Methode nach Brown.

III. Spezieller Teil.

1. Bisherige Ergebnisse über die Oestrogenausscheidung im Zyklus.
2. Vergleichende Untersuchungen über die Ausscheidung von Oestradiol, Oestron und Oestriol in der Proliferations- und Sekretionsphase des Zyklus.

IV. Diskussion der Ergebnisse.

V. Zusammenfassung.

VI. Literaturverzeichnis.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

I. Allgemeiner Teil.

Die Oestrogene.

Bis zum Jahre 1929 waren die Oestrogene nur durch ihre biologische Wirkung bekannt. 1923 veröffentlichten Allen und Doisy (2) eine Testmethode zur Bestimmung des Brunsthormons in kleinsten Mengen. Ascheim und Zondek fanden 1927 im Schwangerenarn große Mengen von brunstauslösendem Hormon. Dies war die Voraussetzung für die Isolierung und Aufklärung der Konstitution der natürlich vorkommenden Oestrogene. Butenandt, Doisy und Laqueur gelang fast gleichzeitig die Reindarstellung des kristallinen "Follikelhormons", des heutigen Oestrone, aus Schwangerenarn (15, 22, 23). 1930 gewann G.F. Marrion (45) ebenfalls aus Schwangerenarn eine weitere Substanz mit oestrogener Wirkung, das Oestrin. Durch Hydrierung der Ketogruppe des Oestrone konnte man zwei Isomere, das α - und das β -Oestradiol gewinnen. Butenandt (5) trennte sie durch fraktionierte Kristallisation. Doisy (23) isolierte 1934 das natürlich vorkommende α -Oestradiol, Winterssteiner (69) die α - und β -Isomere.

Chemische Struktur.

Die Oestrogene leiten sich in ihrer chemischen Struktur vom Sterangerüst, dem Cyclo-pentano-perhydro-phenantren ab. Sie unterscheiden sich von den anderen Steroiden durch den aromatischen A-Ring und werden deshalb auch Phenolsteroiden genannt. Oestron ($C_{18}H_{22}O_2$) ist ein ungesättigtes Diketon, das sich aus einem Benzolring A mit einer Hydroxylgruppe an C_3 und drei hydrierten Ringen B, C und D zusammensetzt. Es kristallisiert in einer rhombischen (Schmelzpunkt $254^{\circ}C$) und einer monoklinen Form (Schmelzpunkt $256^{\circ}C$).

Beim Oestradiol ($C_{18}H_{24}O_2$), dem Dihydro-Oestron unterscheidet man zwei Isomere, das α -Oestradiol (Schmelzpunkt bei 174° - $178^{\circ}C$) mit einer Hydroxylgruppe an C_{17} in cis-Konfiguration und das β -Oestradiol (Schmelzpunkt bei $223^{\circ}C$) mit einer Hydroxylgruppe an

C₁₇ in trans-Form.

Beim Oestriol (C₁₈H₂₄O₃) handelt es sich um das Hydrat des Oestrone, sein Schmelzpunkt liegt bei 280 ° C. An C₃, C₁₇ und C₁₆ befindet sich je eine Hydroxylgruppe.

Chemisch lassen sich die Oestrogene leicht ineinander überführen (15) . Bis 1954 waren nur diese drei Phenolsteroido isoliert und in ihrer Wirkung bekannt. In diesem Jahre entdeckte

B a u l d. (46) das 16-Epioestriol, das cis-Isomer des Oestriols im Schwangeren-Harn, welches später auch im Zyklus gefunden wurde. Er nahm an, daß beide Isomere, das 16-Epioestriol und das Oestriol, aus dem Oxo-Oestradiol-17-B hervorgehen, das bis dahin nur synthetisch hergestellt werden konnte.

Auf der Suche nach dem natürlichen Vorläufer der zwei genannten Isomere stießen M a r r i a n und J. W a t s o n (46) auf ein Kober-Chromogen, das zwar ein chromatographisch sehr ähnliches Verhalten zeigte, sich aber durch seinen höheren Schmelzpunkt und seinen linksdrehenden Charakter unterschied. Bei der Isolierung aus Schwangeren-Harn erwies es sich dann als 16-a-Hydroxy-Oestron. Es war 1954 von L e e d s , F u k u s h i m a und G a l l a g h e r schon synthetisch hergestellt worden und geht in alkalischer Lösung in 16-Oxo-Oestradiol über. Letzteres ist also ein Kunstprodukt.

Für diese in letzter Zeit gefundenen Oestrogene wurden noch keine befriedigenden Bestimmungsmethoden entwickelt, obwohl sie der Quantität nach in ähnlicher (16-Epioestriol) oder sogar höherer (16-a-Hydroxy-Oestron) Konzentration im Harn vorkommen wie das Oestriol, das Oestron und das Oestradiol (47).

Bildungsstätten und Wirkung der Oestrogene.

Die natürlichen Oestrogene sind sowohl im weiblichen, als auch im männlichen Organismus zu finden. Als hauptsächlichste Bildungsstätten nimmt man die Thekazellen des reifenden Follikels, und auch die Thekaluteinzellen des Corpus luteum an. Große Mengen von Oestrogenen enthält auch der Trophoblast. Außerdem werden sie in den Hoden und den Nebennieren gebildet.

Im Tierreich findet man die Oestrogene bei allen Tierklassen, von den Wirbeltieren bis zu den Protozoen (46). In der Pflanzenwelt sind sie ebenfalls verbreitet:

Die brunstauslösende Wirkung der oestrogenen Hormone zeigt sich bei kastrierten, senilen und infantilen Tieren in gleicher Weise wie bei normalen geschlechtsreifen.

Im weiblichen Organismus beginnt mit der Pubertät, infolge der zunehmenden Oestrogenproduktion, eine allgemeine Umstellung.

Sie äußert sich im Organismus in Knochenwachstum und Skelettereifung, in anabolen Stoffwechselvorgängen, in einem NaCl und Wasser retinierenden Effekt und in einer stimulierenden Wirkung auf das hämatopoetische System (50,51). Durch die Oestrogene wird auch die weibliche Psyche stark beeinflusst. An den genitalen Erfolgsorganen veranlaßt sie zusammen mit dem Progesteron die weiblichen zyklischen Veränderungen. Allein bewirken sie an der Uterusschleimhaut eine Proliferation und gemeinsam mit dem Progesteron eine funktionelle Leistung. Oestriol fördert besonders die Sekretion der Cervixdrüsen, aber auch die Proliferation des Vaginalepithels (54). Das Uteruswachstum im Zyklus und in der Schwangerschaft geschieht ebenso unter der Einwirkung der Oestrogene, wie das Wachstum des Drüsenanteils der Mamma und die Laktationshemmung bis zur Geburt.

Eine hemmende Wirkung haben die Oestrogene auch auf die Gonadotropinausschüttung des Hypophysenvorderlappens, der als übergeordnetes Zentrum gemeinsam mit dem Zwischenhirn das hormonale Geschehen im Körper steuert.

Im Tierversuch zeigen die drei Oestrogene eine unterschiedliche biologische Aktivität. Oestradiol ist die wirksamste Substanz, etwa 8-10 mal aktiver als das Oestron (45). Bedingt durch die räumliche Anordnung ist β - Oestradiol am aktivsten. Oestriol ist biologisch am wenigsten wirksam. Man mißt die Aktivität der Oestrogene in internationalen Einheiten (IE). Die biologische Maßeinheit ist die Mäuse- oder Ratteneinheit. Sie ist die Minimalmenge an Oestrogenen, die bei weiblichen kastrierten Tieren zum reinen Schollenstadium der Vagina führt.

Es entsprechen je 1000 μ -Oestriol, bzw. Oestron, bzw. Oestradiol biologisch 75 ME, bzw. 8000 ME, bzw. 750000 ME (30).

Die Oestradiolester haben infolge der langsameren Resorption eine intensivere Einwirkungskonstanz auf die Erfolgsorgane als die freien Verbindungen.

Mengenmäßig ist von den drei Oestrogenen das Oestradiol meistens am wenigsten vorhanden, Oestron nimmt eine Mittelstellung ein und Oestriol macht besonders in der Gravidität den größten Teil aus.

Stoffwechsel der Oestrogene.

Die Oestrogene entstehen im Stoffwechsel der Steroide; es gilt sowohl Progesteron, wie auch Androgen als Pro-Oestrogen. Die Erforschung ihrer Biosynthese machte in jüngster Zeit gewisse Fortschritte.

Die Inaktivierung der oestrogenen Hormone findet in der Leber statt. Entsprechend beobachtete man bei Lebererkrankungen eine gesteigerte Ausscheidung von freien Oestrogenen im Harn (56). Schon Z o n d e k stellte den inaktivierenden Effekt von Rattenlebergewebe am Verlust biologischer Oestrogenaktivität fest. H e l l e r , L e w y und de M e i o u.a. erklärten dies mit einem sekundären Abbau des Hormons. Nach den heutigen Kenntnissen stellt Oestradiol den Ausgangsstoff der Oestrogene dar, während aus Oestriol vermutlich keine andere oestrogene Substanz entsteht. Demgegenüber kann Oestron wieder in Oestradiol umgewandelt werden, was von verschiedenen Untersuchern (46,62,59) bei der Bebrütung von tierischem und menschlichem Lebergewebe mit Oestradiol und Oestron nachgewiesen wurde.

H e u s g h e n und V e r l y (33) untersuchten den Abbau von $16\text{-C}^{14}\text{O}$ Oestron im Lebergewebe der Ratte und des Kaninchens. Sie fanden einen raschen Abbau unter Aufspaltung des Fünferinges und beobachteten die Umsetzung der Phenolsteroiden in Neutralsteroiden. Daneben waren aber auch phenolische Steroide vorhanden, die sich als Oestradiol und Oestron erwiesen. Bei der i.v. Injektion von C^{14} Oestron ließ sich die Substanz nach

kurzer Zeit nicht mehr nachweisen, dagegen fand man Abbauprodukte von Steroidcharakter.- Inkubationsversuche zeigten, daß Ovarien, Hoden, Nebennieren, Plazenta und Endometrium auch C^{14} Testosteron in vitro zu Oestradiol und Oestron umwandeln können (26). Es gelang in vitro auch der umgekehrte Weg, er erbrachte neutrale und saure Metabolite, teilweise mit Ketoncharakter. Der Umbau von Neutralsteroiden in Phenolsteroiden war damit bewiesen.

H e a r d gewann 1954 nach Verfütterung von C^{14} Acetat an trächtige Stuten außer C^{14} Equilin und Equilenin, den spezifischen Pferdestoffwechselprodukten, C^{14} Oestron aus dem Harn; Acetat stellt ein Ausgangsprodukt des Cholesterins und der Neutralsteroiden dar (26).

Bei der Hydrolyse mit Enzymen zeigte sich, daß Oestron vorwiegend an Schwefelsäure gekoppelt, Oestriol hauptsächlich als Glucuronid und Oestradiol in beiden Verbindungen vorkommt.

P e a r l m a n fand injiziertes Hormon sofort im Gewebe, von dem es um- und abgebaut wurde. Die Abbauprodukte erschienen rasch wieder im Blut und wurden durch die Nieren oder die Galle ausgeschieden. Unter den mit der Galle ausgeschiedenen Steroiden konnten die Glucuron- und Schwefelsäureester von Oestriol und Oestradiol nachgewiesen werden, aber fast kein Oestron(51)

Die Hauptausscheidung der Oestrogene erfolgt mit dem Harn und zwar weniger frei als in Form von wasserlöslichen Estern. Außerdem werden die Oestrogene durch die Fäkalien, das Colostrum und den Speichel ausgeschieden.

Eine hohe Oestrogenausscheidung findet man in der Gravidität, bei Granulosa- oder Thekazellentumoren der Ovarien, aber auch zum Teil bei Follikelpersistenzen und feminisierenden Nebennierentumoren.

Bei Kastratinnen, bei Frauen in der Menopause und bei Ovarialinsuffizienz sind sie nur in geringem Umfang nachweisbar.

Die Oestrogenkonzentration im Harn und im Blut bei der geschlechtsreifen Frau.

Mit dem Allen - Doisy - Test konnten erstmals die Zusammenhänge zwischen Ovarialtätigkeit und Hormonausscheidung untersucht werden. Dabei galt das besondere Interesse der Physiologie des weiblichen Zyklus.

Vor allem von Siebke, Fluhman, d'Amour, Dingemans, Laqueur und Werner wurden Höchstwerte einer biologischen Aktivität bis zu mehreren hundert Mäuseeinheiten pro Tag festgestellt. Smith, Smith und Pincus, Gustavson und Mitarbeiter, sowie Leuthard und Koller fanden ähnliche Werte in Ratteneinheiten gemessen.

Nach der Entwicklung chemischer Bestimmungsmethoden konnte die hormonale Situation in Gewichtseinheiten erfasst werden. Mit fluorimetrischen und spektrophotometrischen Methoden beobachteten Humm und Mitarbeiter, Gerli und Jailer im Zyklus Gesamtwerte der Oestradiol- und Oestronfraktion von 5-8 μ /Tag. Mayer untersuchte nur die Oestronausscheidung und fand Werte von 5-45 μ /Tag. Eine Trennung der sauren und neutralen Harnsteroiden führten Jayle und Keller durch. Jayle gab Gesamtphenolsteroidwerte zwischen 30-180 μ /Tag an, während Keller Oestrogenmengen bis zu 400 μ am Tag nachweisen konnte. Eine getrennte Bestimmung von Oestradiol, Oestron und Oestriol gelang Smith, Smith und Schiller. Sie konnten bereits den prozentualen Anteil der einzelnen Oestrogenfraktionen im Zyklus bestimmen. Noch exaktere Ergebnisse über das Verhalten aller drei Oestrogenfraktionen erhielt Brown (S. Abschnitt III). Um 1930 konnten Loewe, Frank u.a. die oestrogene Aktivität qualitativ biologisch im Blut nachweisen. Es wurden jedoch erst in den letzten Jahren differenziertere Untersuchungen ausgeführt. 1956 und 57 stellten Aitken und Preedy im Blutplasma nur in der Corpus luteumphase erfaßbare Oestrogenmengen fest. Auf 100ml Plasma kamen 0,06-0,215 μ Oestron, 0,07 μ Oestradiol und 0,150-0,296 μ Oestriol. Puck fand im peripheren Blut im allgemeinen nur Oestriol (0,075-0,4 μ /ccm Plasma). Oestradiol ließ sich nur vereinzelt nachweisen. J. Varangot und

Mitarbeiter beobachteten während der Geschlechtsreife ca. 7 μ / 10 ccm Blut Oestron/Oestradiol und ca. 0,7 μ / 10 ccm Blut Oestriol. E. G. C h r i s t i a n s e n berichtete über drei Gipfel-
punkte der Oestrogenkonzentration im Blut während des Zyklus,
und zwar um den 2.-4., um den 10-15. und um den 18.-22. Zyklus-
tag. Voraussichtlich wird sich in der Zukunft das hormonale
Geschehen im Ovarium auch durch Blutbestimmungen genauer erfassen lassen.

II. Methodik.

Biologische Bestimmungsmethoden.

Der Nachweis der oestrogenen Hormone aus Organextrakten oder Körperflüssigkeiten geschah in der ersten Zeit ausschließlich durch biologische Testung. Schon 1906 erzeugte Marshall-Jolly mit Lipoidextrakten aus Ovarien bei Tieren eine künstliche Brunst. Steinach verjüngte seniele Tiere durch solche Extrakte und erhielt bei infantilen Tieren verfrühten Geschlechtsdrang. Mit dem Allen-Daisy-Test (2) gelang es bereits, den Hormongehalt indirekt aufgrund der biologischen Aktivität annähernd qualitativ zu messen. An kastrierten Mäusen, aber auch an anderen Nagetieren ließ er sich leicht durchführen. Von anderen Untersuchern wurden weitere Testmöglichkeiten beschrieben, zum Beispiel der Vaginalöffnungstest oder der Uteruswachstumstest. Bei allen biologischen Nachweismethoden waren die Resultate von der Art der Applikation abhängig. Vaginal zugeführt, erhielt man zum Beispiel weit höhere Werte als bei subcutaner Verabreichung. Ein besonderer Nachteil biologischer Bestimmungsverfahren liegt in dem großen Bedarf an Testtieren. Außerdem ist die Quantität nur indirekt über die biologische Wirkung zu bestimmen und damit von verschiedenen zum Teil unbekannten Faktoren abhängig. Zuverlässiger werden biologische Tests erst, wenn ihnen eine Trennung der Oestrogenfraktionen auf chemischem Wege vorangeht (46).

Chemische Bestimmungsmethoden.

Die biologischen Bestimmungsmethoden sind heute fast vollständig durch die chemischen abgelöst worden. Diese haben bis zum heutigen Stand eine lange Entwicklung durchgemacht. Das erste Ziel war die Anreicherung der Steroidhormone im Harn und die Abtrennung der störenden Begleitstoffe. Bei fast allen Methoden wurde dies durch Hydrolyse, Extraktion der Hormonfraktion und Reinigung des Extraktes erreicht. Auf verschiedenen Wegen erfolgte danach die quantitative Bestimmung (19, 60, 64, 43, 61). B a c h m a n n und P e t i t (5) gelang eine Trennung in die Oestradiol/Oestron- und die Oestriolfraction. Oestradiol und Oestron ließen sich sehr gut mit Benzol oder Äther aus dem Harn extrahieren, während Oestriol in wässrigem Milieu besser löslich war. J a i l e r (35) modifizierte das Verfahren für den klinischen Gebrauch, K e l l e r (41) konnte durch Säurehydrolyse (HCl) und Ätherextraktion einen Extrakt gewinnen, der die gesamten Phenolsteroiden enthielt. Die weitere Trennung erfolgte mit Hilfe der Chromatographie in eine schwach phenolische Fraktion (Oestron, Oestradiol u.ä.) und eine stark phenolische, jedoch nicht völlig von unspezifischen Substanzen gereinigte Fraktion (Oestriol u.ä.).

Eine Meßmethode wurde zuerst von K o b e r ausgearbeitet (42). Beim Erwärmen von verdünnter Schwefelsäure mit dem Hormongemisch entstand eine rote Farbe mit grünlicher Fluoreszenz. 1938 empfahl K o b e r zur Verbesserung seiner Methode die Anwendung von Naphtolschwefelsäure. P s c h y r e m b e l (57) verfeinerte in letzter Zeit den K o b e r - T e s t und entwickelte ein Verfahren zur getrennten Bestimmung der oestrogenen Hormone. J a i l e r , C o h e n und B a t e s und F i n k e l s t e i n beschrieben eine Methode zur Messung der Fluoreszenz, da ihnen die einfache Colorimetrie zu ungenau erschien. N a k a o (49) benutzte eine mikrofluorimetrische Methode zur getrennten Bestimmung der Oestrogene im Blut und im Urin. V a r a n g o t und Mitarb. (65) und A. P u c k (55) entwickelten weitere Methoden zur Bestimmung von Oestron/Oestradiol und Oestriol im peripheren Blut.

1948 benutzte F r i e d g o o d - G a r s t zum ersten Mal das Ultraviolett-Spektrophotometer von B e c k m a n . Zum Färben wurde 70% Schwefelsäure verwandt. Auch B r e i t n e r und E i c h s t ä t t e r arbeiteten mit diesem Verfahren und führten die rechnerische Auswertung der durch die spektrophotometrische Messung gewonnenen Extinktionskurven nach der Allen'schen Formel aus (7).

Die angewandte Methode nach B r o w n .

In den folgenden Untersuchungen wurde die Methode von J.B. B r o w n (9) angewandt; sie ist zur Zeit die verlässlichste und sicherste zur getrennten Bestimmung von Oestradiol, Oestron und Oestriol. Es können Hormonmengen bis zu 5 γ einwandfrei nachgewiesen werden. Die Spezifität und Genauigkeit des Verfahrens ist überprüft und erwiesen; durch Wiedergewinnungsversuche bei jedem Arbeitsgang, durch den Vergleich mit biologischen Versuchsergebnissen, durch Parallelversuche mit anderen Methoden und durch Doppelbestimmungen.

Von R.P. B u l b r o o k und Mitarbeitern (14) wurde im biologischen Testversuch die Oestrogenaktivität einer nach dem B r o w n 'schen Verfahren gewonnenen , phenolischen Fraktion mit einer Standard-Oestrogenlösung verglichen, die nach dem Oestrogen-Konzentrationsverhältnis des analysierten Harns zusammengestellt worden war. Der relative Aktivitätsunterschied zwischen phenolischer Fraktion und Standardlösung betrug 1,1. Eine ähnliche Beweisführung erbrachten H. B r e u e r und Mitarbeiter (8).

Die Methode wurde ursprünglich von C l a y t o n entwickelt. B r o w n führte einen zusätzlichen Arbeitsgang zur Reinigung des Hormonextraktes ein. Die Methylierung der phenolischen Fraktion bewirkt eine bessere Trennung von den störenden Substanzen. Die methylierten Oestrogene wurden weiter gereinigt und chromatographisch auf einer Aluminiumsäule getrennt. Anschließend erfolgte nach einer verbesserten K o b e r -Farbenreaktion die Färbung und im Spektrophotometer die Messung der Extinktionswerte. Störende nicht beseitigte Urinchromogene und oxydiertes Quinol ("Background") konnten durch die A l l e n 'sche Korrekturformel beseitigt werden.

Bei der Durchführung der Versuche wurde die im Originaltext angegebene Arbeitsvorschrift eingehalten.

Es wurden folgende Chemikalien verwendet:

HCl,	1,19 pro analysi
Äther,	p.a.
Na_2CO_3 ,	ph 10,5
NaOH,	8%ig
NaHCO_3 ,	8%ig
Äthanol,	absolut
Petroläther,	p.a.
Benzol,	p.a.
H_3BO_3 ,	p.a.
NaOH,	1,6%ig
NaOH,	20%ig
Dimethylsulfat	p.a.
Perhydrol,	p.a.
Al_2O_3 ,	p.a.
Quinol	
H_2SO_4	

Arbeitsvorschrift und Erklärung der verschiedenen Arbeitsgänge:
Hydrolyse und Extraktion.

200 ml einer 24-Stunden-Urinmenge bringt man in dem Refluxkondensator zum Kochen, versetzt mit 30 ml konzentrierter HCl (11n) und kocht 60 min lang weiter. Anschließend wird rasch abgekühlt. Dadurch werden die zum großen Teil als Ester ausgeschiedenen Oestrogene aus ihren Verbindungen in Freiheit gesetzt.

Durch den Refluxkondensator wird ein Substanzverlust beim Kochen bzw. Verdampfen verhindert und der Säure-pH-Wert während der Hydrolyse aufrechterhalten.

Den abgekühlten, hydrolysierten Urin extrahiert man einmal mit 200 ml und anschließend mit 2 mal 100 ml Äther nach dem 3-Scheidetrichter-System. Die saure Fraktion wird durch Waschen des Äthers mit einer gesättigten Na_2CO_3 -Lösung (80ml) vom pH 10,5 entfernt. Den Ätherextrakt schüttelt man mit 200 ml NaOH kräftig durch. Die NaOH-Schicht, die auch einige Oestrogene enthält, wird mit 80 ml 8%iger gesättigter NaHCO_3 -Lösung teilweise neutralisiert, sodaß die Carbonationen-Konzentration steigt. Dann schüttelt man noch einmal mit dem Ätherextrakt zusammen. Dadurch gelangen die Oestrogene in den Äther zurück, die störenden Substanzen bleiben in der wässrigen Schicht und werden verworfen. Der Ätherextrakt wird noch einmal mit 20 ml 8%iger gesättigter NaHCO_3 -Lösung gewaschen, um ein ev. noch vorhandenes alkalisches Milieu zu neutralisieren und um einen allzu großen Oestriolverlust bei der anschließenden Reinigung mit aqua dest., welche die Bikarbonate beseitigt, zu verhindern.

Nach den Recoveryversuchen von B r o w n werden bei dem bisherigen Vorgang 97% Oestriol, 100% Oestron und Oestradiol wiedergewonnen.

Extraktion der Phenolfraktion und Methylieren.

Der Ätherextrakt wird in einem 500 ml-Kolben bis zur Trockene eingedampft. Den Rückstand löst man sofort in 1 ml Äthanol, um Oestriol, das in Benzol nicht leicht löslich ist, aufzulösen und kühlt den Kolben ab. Sein Inhalt wird dann mit 25 ml Benzol in einen Scheidetrichter gebracht, der bereits 25 ml Leichtpetroleum enthält.

Das Benzol-Leichtpetroleumgemisch extrahiert man mit:

- a) 2 mal 25 ml aqua dest.
- b) 2 mal 25 ml NaOH.

Der Wasserextrakt enthält das gesamte Oestriol und kommt in einen verschlossenen 100 ml-Kolben mit 0,9 g H_3BO_3 + 4 ml 20%iger NaOH. Der NaOH-Extrakt, der die Oestron/Oestradiolfraction enthält, kommt ebenfalls in einen 100 ml-Kolben mit nur 0,9 g H_3BO_3 . Dabei gewinnt man nach Brown 98% Oestriol in H_2O gelöst, 96% Oestradiol und 97% Oestron in NaOH gelöst. 4% Oestradiol gehen im Wasserextrakt verloren. Beide Behälter werden in einem Wasserbad auf $37^{\circ}C$ erwärmt. Dem Gemisch fügt man je einen ml Dimethylsulfat zu, schüttelt kräftig durch und beläßt es 10 - 30 Minuten im Wasserbad. Der Vorgang wird nach Zugabe eines weiteren ml Dimethylsulfat wiederholt. Letzteres ersetzt das erste bereits neutralisierte Dimethylsulfat. Danach ist die Methylierung beendet, wobei 95% Oestriol, 96% Oesrton und 98% Oestradiol in ihre Monomethyläther umgewandelt werden.

Entfernung der störenden Substanzen durch Oxydation und Extraktion der methylierten Oestrogene.

Jedem Kolben werden zugegeben:

- 10 ml 20%ige NaOH
- 2,5 ml 30%iges H_2O_2 .

Das konzentrierte Peroxyd in alkalischer Lösung bei Raumtemperatur stellt das beste Oxydationsmittel zu Entfernung der alkalisch-löslichen Verbindungen in diesem Stadium dar.

Die methylierte Oestriolfraction wird mit 25 ml Benzol, die methylierte Oestron/Oestradiolfraction mit 25 ml Leichtpetroleum in Scheidetrichtern extrahiert. Zuvor benutzt man die Lösungsmittel zum Spülen der entsprechenden Methylicationsbehälter.

Der Benzol- und der Leichtpetroleumextrakt werden 2 mal mit 5 ml aqua dest. gewaschen und das Wasser möglichst vollständig abgelassen.

Die Reinheit der methylierten Oestrogenextrakte erkennt man schon äußerlich daran, daß die Benzol- und die Leichtpetroleumphase fast farblos ist, und sich alle sichtbaren Pigmente in der wässrigen Schicht befinden.

Chromatographie.

Sie führt zur Trennung in die drei Oestrogenfraktionen: In das "stark phenolische" Oestriol und das "schwach phenolische" Oestron und Oestradiol. Daneben beseitigt sie auch weitere Chromogene, die im Rohextrakt noch vorhanden sind.

Bei der chromatographischen Trennung werden standardisierte Glasröhren verwendet, die mit einer Alaunsäule gefüllt sind.

Die Säule ist von unten nach oben folgendermaßen aufgebaut:

a) Watteschicht

b) 2g Aluminiumoxyd, das mit drei Tropfen aqua dest. passend aktiviert wird

c) ca. 1ccm in Essig-Äthanol gewaschener Sand, der zum Schutze der Säule bei der Zugabe von Lösungsmitteln dient.

Die Säulen werden mit ungefähr 10 ccm des entsprechenden Lösungsmittels präpariert.

Die methylierte in Benzol gelöste Oestriolfraction durchläuft dann ebenfalls die präparierte Alaunsäule und wird gewaschen mit:

a) 12 ml eines Gemisches von 1,4%igem Äthanol in Benzol. Die durchgelaufene Flüssigkeit entfernt Urinfarbstoffe und wird verworfen.

b) 15 ml eines Gemisches von 2,5 %igem Äthanol in Benzol. Die passierte Lösung enthält den gesamten Oestriol-Methyläther, der gesammelt wird.

Die methylierte Oestron/Oestradiolfraction in Leichtpetroleum gießt man durch die zweite präparierte Alaunsäule. Diese Säule reinigt man mit:

a) 12 ml eines Gemisches von 12%igem Benzol in Leichtpetroleum das anschließend verworfen wird.

b) 15 ml eines Gemisches von 40 %igem Benzol in Leichtpetroleum und weiteren 12 ml desselben Gemisches.

Diese Lösung mit dem gesamten Oestronmethyläther wird sorgfältig aufgefangen.

Der gesamte Oestradiolmethyläther wird nun mit 12 ml Benzol herausgelöst.

Schematische Darstellung des B r o w n s c h e n Verfahrens
zur Bestimmung der Oestrogene.

Hydrolyse des Urins mit HCl
| Ätherextraktion
Ätherextrakt

Waschen mit : 1. Gesättigter Na_2CO_3 -Lösung (pH 10,5)
2. NaOH
3. NaHCO_3
4. Aqua dest.

Verdampfen des Äthers; lösen des Trockenrückstandes mit Äthanol.
Zugabe von Benzol und Leichtpetroleum (in gleichen Mengen).

Wasserextraktion

Benzol-Leichtpetroleumextrakt

Extraktion mit NaOH

Extraktion mit Wasser

NaOH-Extrakt (Oestron/Oestradiol)

Wasserextrakt (Oestriol)

Zugabe von H_3BO_3

Zugabe von H_3BO_3 +NaOH

[Methylierung mit
Dimethylsulfat bei 37°C

Methylierung mit
Dimethylsulfat bei 37°C]

Extraktion mit
Leichtpetroleum

Extraktion mit
Benzol

[Waschung des Leichtpetroleum-
Extraktes mit aqua dest.

Waschung des Benzol-
Extraktes mit aqua dest.]

Chromatographie
auf einer Al-Säule

Chromatographie
Auf einer Al-Säule

↓
Oestron-
Methyläther

↓
Oestradiol-
Methyläther

↓
Oestriol-
Methyläther

Verdampfen der Lösungsmittel.

Den drei Oestrogenfraktionen wird Quinol (4 mg) in Äthanollösung (0,2 ml von 2% w/v) und ein kleines Stück porösen Ziegels zugegeben. Die Lösungsmittel destilliert man ab und trocknet den Rückstand am Vakuum.

Eine einzelne Bestimmung erforderte ohne Messung eine Arbeitszeit von etwa 12 Stunden. Durch nebeneinander laufende Versuche konnte Zeit eingespart werden.

Die quantitative Erfassung der Oestrogene.

Färbung.

Dazu löst man zunächst die kristallisierten Oestrogene sowie die Testreagenzien mit 3 ml eines jeweilig entsprechenden Quinol- H_2SO_4 -Reagenz und erhitzt 20 min lang im kochenden Wasserbad.

Nach der raschen Abkühlung werden

dem 76%igen Quinol- H_2SO_4 -Reagenz $\pm$ Oestriol: 1 ml aqua dest.,
dem 66%igen Quinol- H_2SO_4 -Reagenz $\pm$ Oestron : 0,5 ml aqua dest. und
dem 60%igen Quinol- H_2SO_4 -Reagenz $\pm$ Oestradiol: 0,2 ml aqua dest.
beigefügt. Die Gefäße kommen für weitere 10 Minuten ins siedende Wasserbad. Um den Färbevorgang zu unterbrechen, muß schnell abgekühlt werden.

Bei der Zugabe von H_2SO_4 entsteht ein gelber, leicht fluoreszierender Farbkomplex, seine Intensität ist von der Hormonkonzentration und den enthaltenen Verunreinigungen abhängig. Das Testreagenz zeigt dagegen nur eine ganz leichte Tönung.

Messung.

Die Messung der gewonnenen Oestrogene wird mit dem Beckman-Quarz-Spektralphotometer, Modell DU, durchgeführt. Ihm liegt folgendes Prinzip zugrunde: Ein Hohlspiegelsystem ist so angeordnet, daß ein von einer Lichtquelle kommendes Strahlenbündel auf das Littrow'sche Prisma trifft. Hier wird es in seine einzelnen Spektralbereiche zerlegt und wieder reflektiert. Bei einer besonderen Einstellung des Prismas kann man den Lichtanteil einer bestimmten Wellenlänge ausblenden, durch die zu messende Lösung schicken und auf eine Photozelle treffen lassen. Die Belichtungsintensität der Photozelle ist von der Absorption bzw. optischen

Dichte der zu untersuchenden Substanz abhängig. Die in der Photozelle entstehenden Potentialdifferenzen werden durch die wechselnde Belichtung bei verschiedenen Wellenlängen verursacht; sie sind an einem Widerstand auszugleichen. Die Werte werden auf einer Skala abgelesen. Die Hormon- und Vergleichslösungen füllt man in Cuvetten von 1x1x4 ccm Inhalt, und schiebt sie in die Meßkassette des Beckman-Apparates. Der Strahlengang wird durch die Vergleichslösungen gelenkt, die Extinktion zum Nullwert justiert, die dunklere Hormonlösung dem Strahlengang von 480 m μ ausgesetzt und der abgelesene Wert notiert. Er stellt die Differenz zum Testreagenz dar. Die anschließenden Messungen werden in der gleichen Weise ausgeführt.

Die Messung der Oestriol- und Oestronfraktion erfolgt bei folgenden Wellenlängen: 480 m μ 516 m μ 552 m μ , die der

Oestradiolfraktion bei: 480 m μ 518 m μ 556 m μ .

Auswertung der Extinktionswerte.

Die Störung des Färbvorganges durch die nicht eliminierbaren chromogenen Substanzen des Harns, bzw. durch das oxydierte Quinol, und die dadurch veränderte optische Dichte kann mit der

Allan'schen Formel ausgeglichen werden: Es ergibt sich für Oestriol und Oestron, $2D_{516} - (D_{480} + D_{552})$, für Oestradiol $2D_{518} - (D_{480} + D_{556})$. D bedeutet optische Dichte.

Man setzt nun die bei den entsprechenden Wellenlängen gemessenen Werte in die Formeln ein und berechnet die Extinktion.

Die Menge an Oestrogenmethyläther findet man nach Eintragung der korrigierten Werte auf einer besonderen Standardkurve, die mit reinen Oestrogenmethyläthern festgelegt wurde.

Die abgelesenen Werte rechnet man auf die 24 Stunden-Urinausscheidung um.

Fehlerquellen.

Die Voraussetzung für genaue Ergebnisse sind das Einhalten der angegebenen Reagentienmengen und Temperaturen, sowie das genaue Sammeln des 24 Stunden-Urins. Beim Abdestillieren von Ätherextrakten ist darauf zu achten, daß nur 2 Tropfen pro Sekunde überdestillieren, da sonst Hormone mitgerissen werden können.

Während die Recovery-Werte im Bereich von 4-60% / Tag gute Übereinstimmung zeigten, ergaben sie jedoch bei Mengen von weniger als 4 % / 24 Stunden eine wesentlich größere Streuungsbreite der Ergebnisse.

Bei den eigenen Wiedergewinnungsversuchen wurde einem Oestrogen-armen Urin, dessen Hormongehalt durch das Brown'sche Verfahren ermittelt worden war, eine Reinhormonlösung zugesetzt. Die Ausgangswerte wurden nun von dem aus dem hormonhaltigen und mit Reinhormonlösung versetzten Harn gewonnenen abgezogen und ergaben so die wiedergefundene Hormonmenge.

Für die einzelnen Fraktionen wurden in zwei Versuchen durchschnittlich ein Arbeitsverlust von 11 % Oestron, 21 % Oestradiol und 17 % Oestriol gefunden.

III. S p e z i e l l e r T e i l .

Bisherige Ergebnisse über die Oestrogenausscheidung im Zyklus.

Das grundsätzliche Verhalten der Oestrogenausscheidung im Harn während des Zyklus konnte zum Teil schon mit den biologischen Bestimmungsmethoden erkannt werden. Da für die ersten Untersuchungen Nativharn oder ein roher Mischextrakt mit allen Oestrogenen verwendet wurde, ist es verständlich, daß die Variationsbreite der Ergebnisse sehr groß war. Bei der verschiedenen biologischen Aktivität der einzelnen Substanzen war für die Wirkung auf die Erfolgsorgane nicht allein die Menge, sondern auch das Mischungsverhältnis von entscheidender Bedeutung.

Am häufigsten wurden zwei Ausscheidungsgipfel beobachtet (32, 64, 26, 3, 32): Der erste um die Zeit der vermuteten Ovulation, der zweite in der Corpus-luteumphase. W e r n e r (68) untersuchte normal menstruierende Frauen über mehrere Monate und fand bei derselben Frau große Schwankungen der Oestrogenausscheidung von einem Zyklus zum anderen.

Bessere Ergebnisse wurden erzielt, nachdem auf chemischem Wege eine Trennung der Fraktionen vorgenommen und dann anschließend der biologische Test ausgeführt wurde. So berichteten S m i t h, S m i t h und S c h i l l e r (60) über die Konzentrationsverhältnisse in den verschiedenen Stadien des Zyklus. Sie fanden im ersten Zyklusdrittel: durchschnittlich 60 % Oestradiol, 5 % Oestron und 35 % Oestriol; im zweiten Drittel: 33 % Oestradiol, 20 % Oestron und 47 % Oestriol und im letzten Drittel: 40 % Oestradiol, 20 % Oestron und 40 % Oestriol. Ferner beobachteten sie weitgehend übereinstimmend einen langsamen postmenstruellen Oestrogenanstieg mit einem Ausscheidungsgipfel vor der Ovulation, dann einen Abfall, dem ein erneuter Anstieg mit Höhepunkt in der dritten Zykluswoche folgte. Zuletzt fand sich noch ein praemenstruelles Absinken.

Mit den chemischen Bestimmungsmethoden wurden die Ergebnisse der biologischen Testverfahren größtenteils bestätigt (6, 35), wobei sich außerdem manchmal noch ein fraglicher dritter Gipfel "post

menstruationem" zeigte. Bei Frauen mit Amenorrhoe und in der Menopause fanden sich keine Ausscheidungsmaxima, sondern ein gleichmäßig erniedrigter Verlauf. Die Gesamtmenge von Oestradiol und Oestron betrug zwischen 5 und 80 μ pro Tag.

J a y l e und K e l l e r sahen die genannten Charakteristika des Zyklus auch in der Gesamtphenolsteroid-Ausscheidung, jedoch unterschieden sich die von ihnen gefundenen, täglichen Ausscheidungsquoten beträchtlich. Während J a y l e (36) Höchstwerte um 180 μ beschrieb, berichtete K e l l e r (41) über Ausscheidungsmaxima bis zu 400 μ /Tag.

Von 1955 an hat B r o w n mit seinem differenzierteren Verfahren wertvolle Aufschlüsse über die Oestrogenausscheidung im Zyklus erbracht. In seinen Untersuchungen von 1955 erfaßte er immer 2 aufeinander folgende Zyklen bei normal menstruierenden Frauen und stellte fest, daß dieselben meist identisch waren. Die Zyklen verschiedener Frauen verhielten sich zwar im Prinzip einheitlich, unterschieden sich aber in den Ausscheidungsmengen und dem Verhältnis der drei Oestrogenfraktionen untereinander erheblich. Ferner beschrieb er das gemeinsame Ansteigen und Abfallen der Oestradiol- und Oestronkonzentration im Harn, während jedoch Oestriol ca. 24 Stunden nachhinkte.

Einen konstanten Ovulationsgipfel fand er zwischen dem 11-16. Zyklustag mit Werten von 4-14 μ Oestradiol, 11-31 μ Oestron und 13-54 μ Oestriol im 24 Stunden-Harn. Das Maximum in der Corpus-luteumphase um den 23. Zyklustag betrug 4-10 μ Oestradiol, 10-23 μ Oestron und 8-72 μ Oestriol. Die niedrigsten Werte lagen um den Menstruationsbeginn und beim postovulatorischen Hormonabfall. 1957 berichtete B r o w n auch über den Verlauf der Oestrogenausscheidung bei anovulatorischen Zyklen und funktionellen Blutungen; diese hielt sich dabei ziemlich beständig auf gleicher Höhe, durchschnittlich auf 18 μ /Tag. 18 μ genügten also, das Endometrium zu stimulieren, aber nicht, um es zu erhalten. Bei Frauen mit sowohl ovulatorischen wie anovulatorischen Zyklen fand er ein Sistieren der Blutung, sobald die Oestrogenausscheidung über diese Höhe anstieg. In keinem der anovulatorischen

Zyklen wurde ein Ovulationsgipfel beobachtet.

1958 veröffentlichte B r o w n Untersuchungen, die er zusammen mit A. K l o p p e r und L o r r a i n e über die Beziehungen zwischen Gonadotropin-, Oestrogen- und Progesteronausscheidung im Harn voegenommen hatte. Dabei fanden die Autoren einen gleichzeitigen Gipfel der Gonadotropin- und der Oestrogenausscheidung in der Proliferationsphase. Es erscheint deshalb nicht gesichert, ob die vermehrte Oestrogenbildung die Folge der Gonadotropinausschüttung ist. Pregnandiol wurde 1-4 Tage nach dem Oestrogengipfel vermehrt ausgeschieden, der Temperaturanstieg folgte gleichzeitig oder kurz danach. Zwischen dem Größenverhältnis der Oestrogen- und der Progesteronbildung ließ sich keine konstante Beziehung nachweisen. Kaiser kam schon früher zu den selben Resultaten (39).

Der Oestrogenanstieg im Harn bis zum praeovulatorischen Maximum ist nach B r o w n ein Zeichen der zunehmenden Oestrogenproduktion des schnell wachsenden Follikels. Nach seiner Meinung verursacht die Ovulationsruptur den postovulatorischen Abfall. Er folgt der Ovulation direkt und zeigt sie besser an als die Basaltemperatur.

Der Oestrogenanstieg in der Sekretionsphase dagegen ist nach B r o w n die Folge des wachsenden Corpus luteum, das sich zur Zeit des Oestrogengipfels im Blütestadium befindet und sich danach wieder zurückbildet. Damit fällt auch die Oestrogenausscheidung im Harn wieder ab.

Vergleichende Untersuchungen über die Ausscheidung von Oestradiol, Oestron und Oestriol in der Proliferations- und Sekretionsphase des Zyklus.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde nach dem Verfahren von B r o w n Oestradiol, Oestron und Oestriol aus dem 24-Stunden-Harn gewonnen. Die Bestimmungen erfolgten in zwei- bis dreitägigen Abständen während je eines Menstruationszyklus. Außerdem wurde täglich die Basaltemperatur gemessen.

Ergebnisse.

Fall I Frl. M. B. , Studentin, 22 Jahre alt, O-para
Menarche: 14 J., Zyklus: 30/5-6, regelmäßig .

Die Untersuchungen begannen am 7. Tag des 29 Tage langen Zyklus. Die Ausscheidung erreichte schon um diese Zeit den ersten Höhepunkt. Ein Ovulationsgipfel war nicht festzustellen, der Temperaturanstieg erfolgte zwischen dem 13. und 15. Tag, um im letzten Zyklusdrittel noch einmal um $0,3^{\circ}\text{C}$ anzusteigen. Die Ausscheidungsmengen von Oestradiol und Oestriol lagen in der Proliferationsphase zwischen 4 und 5μ /24 Stunden, die Oestronausscheidung zeigte höhere Werte um 15μ /24 Stunden.

Die Sekretionsphase brachte bezüglich der Oestron- und Oestriolfraktion zunehmend höhere Werte, die Gesamtoestrogenausscheidung stieg dadurch fast auf das Doppelte an (von 24 auf 40μ). Einen deutlichen Gipfel in der Lutealphase zeigte das Oestron am 24. Tag mit 53μ . (s. Abb. 1. und Tab. 1)

Fall II Frl. S. Z. , Studentin, 24 Jahre alt, O-para
Menarche: 15 J. , Zyklus: 30-33/5-6, regelmäßig.

Untersuchungsbeginn am 9. Tag des 33-tägigen Zyklus. Die Oestrogenausscheidung war anfangs in allen drei Fraktionen verhältnismäßig niedrig und stieg bis zum Ovulationsgipfel am 15. Zyklustag stetig an.

Anschließend fanden sich abfallende Werte. Der Temperaturanstieg erfolgte in Etappen vom 17. bis 21. Tag. In der Corpus-luteumphase war der Oestriol-gipfel mit 92 μ am 25. Zyklustag besonders deutlich ausgeprägt, aber auch das Oestron erreichte mit 28 μ am 23. Zyklustag einen Höhepunkt. Die Oestriolausscheidung lag während des ganzen Zyklus am höchsten, mit durchschnittlich 38 μ in der Proliferations- und 55 μ /Tag in der Sekretionsphase. Es wurde durchschnittlich pro Tag 10-11 μ Oestradiol und Oestron ausgeschieden. Die Oestriolausscheidung wies einen weiteren Prämenstruellen Gipfel um den 31. Zyklustag auf. Die Gesamtoestrogenausscheidung lag in der Sekretionsphase um durchschnittlich ein Sechstel höher als in der Proliferationsphase (72 μ gegenüber 60 μ) .

Fall III

Frl. H.B., Hebammenschülerin, 20 Jahre alt, O_{para}
Menarche: 12 J., 'Zyklus: 24-29/6-7, nicht ganz regelm.

Die erste Oestrogenbestimmung erfolgte am 9. Tag des 28 Tage langen Zyklus. Die Oestrogenkonzentration im Harn stieg wieder bis zum 15. Zyklustag an. Hier lag der Ovulationsgipfel mit 54 μ Oestradiol, 68 μ Oestron und 29 μ Oestriol. Der Temperaturanstieg folgte dem Ovulationsgipfel vom 16. Tag an stufenweise. Höchstwerte in der Sekretionsphase fanden sich am 19. Zyklustag in allen Fraktionen, auffallend hoch beim Oestron mit 100 μ . In diesem Zyklus war der Oestronanteil innerhalb der Gesamtoestrogenausscheidung im Harn allgemein vorherrschend und betrug durchschnittlich 31 μ , neben 15 μ Oestradiol und 17 μ Oestriol in der ersten Zyklusphase und 48 μ , neben 22 μ Oestradiol und 14 μ Oestriol in der zweiten Zyklusphase. Die Gesamtoestrogene lagen wiederum im Durchschnitt in der zweiten Phase um 1/4 höher. (84 μ gegenüber 64 μ).

Fall IV

Fr. I.K., Ärztin, 36 Jahre alt, 3-para

Menarche: 13 J., Zyklus: 26-29/4-5 regelmäßig

Die Untersuchungen begannen am 7. Tag des 27tägigen Zyklus. Beim Oestradiol und Oestron fanden sich ansteigende Ausscheidungsmengen bis zum Gipfelpunkt am 11. Zyklustag. Oestriol erreichte seinen Höhepunkt erst am 13. Zyklustag. Die Basaltemperatur stieg vom 14.-18. Tag an. Ein deutliches Maximum in der Corpusluteumphase wies die Oestronfraktion mit 55 μ am 22. Zyklustag auf. Dagegen waren die Werte in der Oestriolfraktion gleichbleibend um 35 μ und in der Oestradiolfraktion sehr niedrig. Prämenstruell sank auch die ausgeschiedene Hormonmenge in den übrigen 2 Fraktionen ab.

In diesem Zyklus lag die Oestron- und die Oestriolausscheidung ungefähr auf gleicher Höhe (durchschnittlich bei 30 μ), sie stieg auch in der Lutealphase nicht wesentlich an. Dagegen sank die Oestradiolausscheidung während der Sekretionsphase von 9 auf 3,5 μ durchschnittlich ab. Die Gesamtoestrogenausscheidung hielt sich während des ganzen Zyklus im Mittel auf einer Höhe von 65 μ .

Fall V

Frl. M.K., Hebammenschülerin, 20 Jahre alt, 0-para

Menarche: 18 J., Zyklus: 28-35, unregelmäßig.

Die Untersuchungen während des 29tägigen Zyklus begannen am 8. Tag und wurden bis zur nächsten Menstruation fortgesetzt.

Der Oestrogengipfel in der Proliferationsphase war nicht vorhanden. Die Oestrogenausscheidung im Harn hielt sich in der ersten Zyklushälfte in allen 3 Fraktionen ziemlich konstant auf einer Höhe von 10-14 μ /Tag. Die tägliche Gesamtoestrogenausscheidung betrug durchschnittlich 37 μ . Die Basaltemperatur

verlief monophasisch und zeigte in der 2. Hälfte geringe, uncharakteristische Schwankungen. Die von der chemisch-technischen Assistentin, Frl. Rogowski, gemessene Pregnandiolausscheidung war erst vom 21. Zyklustag an positiv und stieg nur von 0,17-2,4 mg bis zum 29. Tag an.

Besonders auffallend war das Verhalten der Oestrogenausscheidung im letzten Zyklusdrittel. In allen 3 Fraktionen konnte man einen starken, prämenstruellen Anstieg mit dem Höhepunkt am 29. Tag und Werten über 100 μ beobachten. Dabei lag der Oestradiolanteil im Gegensatz zum normalen Zyklus mit 197 μ am 29. Zyklustag an der Spitze, Oestriol folgte mit 183 μ und Oestron mit 124 μ . Der Gesamtoestrogenwert betrug an diesem Tag 504 μ .

T a b e l l e I

Frl. M.B., 22 Jahre, normaler Zyklus: 30/5-6 regelmäßig

Zyklus- tag	Basal- temperatur °C	Harnmenge 24 Std. ccm	Oestradiol γ	Oestron γ	Oestriol μ
7.	36,5	800	e	18	4
8.	36,5	800	11	23	7
10.	36,4	880	4	-	5
13.	36,2	600	e	19	4
15.	36,7	600	5	13	1,5
17.	36,7	470	5	30	10
20.	36,7	800	6,5	9	21
22.	37,0	750	5,5	40	1,5
24.	36,9	800	e	52,5	14,5
27.	37,0	800	e	17	e
29.	36,8	800	21,5	31	1

T a b e l l e II

Frl. S.Z., 24 Jahre, normaler Zyklus: 30-33/ 5-6 regelmäßig

Zyklus- tag	Basal- temperatur °C	Harnmenge 24 Std. ccm	Oestradiol g	Oestron g	Oestriol g
9.	36,7	600	•	2,5	25
11.	36,6	600	10	7	30
13.	36,5	700	10	15	43
15.	36,7	550	27	19	58
17.	36,8	800	13	14,5	18
19.	36,8	500	11	4	53
21.	37,1	750	3	11	35
23.	37,1	900	6	28	55
25.	37,2	800	5,5	5	92
27.	37,1	540	5	7	30
29.	37,2	600	6	28	55
31.	37,2	6 00	8	11,5	72
33.	36,9	500	•	3	50

T a b e l l e III

Frl. B.H. 20 Jahre, normaler Zyklus: 24-29/ 6-7
nicht ganz regelmäßig

Zyklus- tag	Basal- temperatur °C	Harnmenge 24 Std. ccm	Oestradiol μ	Oestron μ	Oestriol μ
9.	36,7	1220	4	10,5	13
11.	36,8	1100	3,5	20	3
13.	36,7	850	0	27	24
15.	36,7	950	54	68	29
17.	37,0	-	-	-	-
19.	37,0	1080	41	100	26
21.	37,2	1100	14	23	9
24.	37,3	780	11	44	0
26.	37,2	-	-	-	-
28.	37,2	960	22	26	21

T a b e l l e IV

Fr. K., 36 Jahre, normaler Zyklus: 26-29/ 4-5 regelmäßig

Zyklus- tag	Basal- temperatur °C	Harnmenge 24 Std. ccm	Oestradiol <i>r</i>	Oestron <i>r</i>	Oestriol <i>r</i>
7.	36,6	780	4	15	34
9.	36,6	1000	8	40	23
11.	36,6	800	18	42	33
14.	36,6	1200	4,5	21	46
16.	36,9	920	4	21	-
18.	37,0	1200	4	33	40
22.	37,0	900	e	55	33
24.	37,0	1040	6,5	39	34
26.	37,0	900	e	11	15,5

T a b e l l e V

Frl. M.K., 20 Jahre, anovulatorischer Zyklus: 28-35/ unregelmäßig

Zyklus- tag	Basal- temperatur °C	Harnmenge 24 Std. ccm	Oestradiol γ	Oestron γ	Oestriol γ
8.	36,3	820	15	e	23
10.	36,3	600	15	3	15
12.	36,3	720	6	15	5
14.	36,2	940	13	25	9
17.	36,3	740	13	28	15
19.	36,3	900	21	16	19
21.	36,3	500	28,5	26	17
23.	36,4	900	84,5	46,5	55
25.	36,3	600	73	53	35
27.	36,3	840	174	83	124
29.	36,4	900	197	123	183

IV. Diskussion der Ergebnisse.

Von den fünf untersuchten Zyklen wiesen vier einen biphasischen Verlauf der Basaltemperatur auf. Die Dauer der hyperthermischen Phase betrug 3 mal 13 und 1 mal 12 Tage, während die hypothermische Phase in größerem Umfange schwankte. Die erstere ist also auch hier die konstantere, was mit den Ergebnissen von D ö r i n g übereinstimmt.

Tabelle VI

Zeitpunkt und Höhe der Oestrogenausscheidungsmaxima der Proliferationsphase in vier normalen Zyklen.

Fall	Länge des Zyklus Tage	Tag des Oestrogengipfels	Ausscheidungsmengen		
			Oestradiol	Oestron	Oestriol
			γ	γ	γ
1.	29	10.	11	23	11
2.	33	15.	27	20	60
3.	28	15.	54	68	29
4.	27	11.	18	42	46

In Zyklus 1-4 konnte je ein Oestrogengipfel in der Proliferationsphase nachgewiesen werden; einmal lag er jedoch schon relativ früh postmenstruell (Fall I). Nach den Untersuchungen von B r o w n kann schon aufgrund dieser Tatsache mit weitgehender Sicherheit eine Ovulation angenommen werden. Es wurden dabei maximale Oestradiolmengen zwischen 11-54 γ gefunden. Bei dem hohen Wert von 54 γ handelt es sich um einen Zyklus, in welchem die Oestradiolausscheidung im Harn allgemein sehr hoch war. Die Oestronausscheidung ergab Spitzenwerte zwischen 20 und 68 γ. Die Oestriolgipfel wiesen Werte von 11-60 γ auf.

Der Zeitpunkt des ovulatorischen Maximums war also von Fall zu Fall verschieden, aber doch in etwa abhängig von der Länge des Zyklus. Das von B r o w n beschriebene Nachhinken des Oestriolgipfels kam vor allem in Fall IV zum Ausdruck. Dem ovulatorischen Maximum folgte in drei der untersuchten Zyklen der charakteristische Oestrogenabfall (12).

Der Anstieg der Basaltemperatur begann in Fall I und II 4-5, in Fall III und IV 2-3 Tage nach dem Oestrogengipfel. Der ovulatorische Abfall ging also in Zyklus I und II dem Anstieg der Basaltemperatur voran, in Zyklus III und IV ereignete sich beides dagegen nahezu gleichzeitig.

Tabelle VII

Zeitpunkt und Höhe der Oestrogenausscheidungsmaxima während der Sekretionsphase in vier normalen Zyklen.

Fall	Länge des Zyklus in Tagen	Tag des Oestrogengipfels	Ausscheidungsmengen		
			Oestradiol	Oestron	Oestriol
			µ	µ	µ
1.	29	24.	5	52	20
2.	33	23.	6	28	92
3.	28	19.	41	100	26
4.	27	21.	-	55	34

Die Ausscheidungsmaxima der Sekretionsphase waren nicht in allen Fraktionen gleich stark ausgeprägt und zeigten in jedem der Zyklen ein individuelles Verhalten. Es beteiligten sich fast ausschließlich Oestron und Oestriol an dem lutealen Anstieg. Oestradiol zeigte nur in Zyklus III einen Gipfel. Bei der Oestronfraktion fanden sich maximal zwischen 28 und 100 µ pro Tag und bei der Oestriolfraktion 20-92 µ/Tag zur Zeit des Ausscheidungsgipfels in dem betreffenden Zyklus. Auffallend war bei den untersuchten Fällen, daß die Werte der vorherrschenden Fraktion während des Maximums in der Corpus-luteumphase wesentlich über dem ovulatorischen Gipfelpunkt lagen; außerdem war der luteale Anstieg meist nur bei einer Fraktion deutlich zu beobachten. Prozentual führend war in Fall I, III und IV das Oestron, in Fall II das Oestriol.

Tabelle VIII.

Das Ausscheidungsverhältnis der drei Oestrogene im Harn.

Fall	Proliferationsphase			Sekretionsphase		
	Oestron/ Oestradiol	Oestriol/ Oestradiol	Oestron/ Oestriol	Oestron/ Oestradiol	Oestriol/ Oestradiol	Oestron/ Oestriol
1.	4:1	1,3:1	3:1	4,5:1	1:1	4:1
2.	1:1	3:1	1:4	2:1	10:1	1:5
3.	2:1	1:1	2:1	2,2:1	1:1,6	3,5:1
4.	3:1	4:1	1:1	9:1	9:1	1:1

Beim Vergleich der Ausscheidungsmengen der drei Fraktionen untereinander konnte kein konstantes Verhältnis von Oestron und Oestradiol gefunden werden. Es schwankte zwischen 1:1 und 4:1 in der Proliferationsphase. Die **Oestriolkonzentration** im Harn war zweimal höher und zweimal gleichgroß wie die des Oestradiols. Das Verhältnis Oestron/Oestriol war ebenfalls sehr inkonstant, zum Teil zugunsten von Oestron, zum Teil zugunsten von Oestriol (s. Tabelle VIII).

Für die **Sekretionsphase** ergaben sich ähnliche Ausscheidungsverhältnisse; Oestradiol hatte immer den geringsten Anteil, während sich die beiden übrigen Fraktionen unterschiedlich verhielten.

Tabelle IX

Durchschnittliche Tagesausscheidung der Oestrogene in der Proliferationsphase.

Fall	Gesamt-oestrogen-ausscheidung	Oestradiol	Oestron	Oestriol
		g	g	g
1.	24	4	15	5
2.	60	12	10	38
3.	64	15	31	17,5
4.	67	9	29,5	34
Durchschnitt	54	10	21,5	24

In der Proliferationsphase schwankten die durchschnittlichen Gesamtoestrogenwerte zwischen 25 und 70 g/Tag (im Mittel 54 g pro Tag), jedoch lagen sie in drei der Zyklen zwischen 60 und 70 g. Die Oestronmengen betrugen 10-30 g (im Mittel 21,5 g), die Oestradiolmengen 5-38 g/Tag (im Mittel 24 g).

Tabelle X

Durchschnittliche Tagesausscheidung der Oestrogene in der Sekretionsphase.

Fall	Gesamt-oestrogen-ausscheidung	Oestradiol	Oestron	Oestriol
		g	g	g
1.	40	6	30	7
2.	72	6	11,5	55
3.	84	22	48	14
4.	69	3,5	32	30
Durchschnitt	66	9,5	30,5	26,5

In der Sekretionsphase betrug die Gesamtoestrogenausscheidung zwischen 40 und 84 μ /Tag (im Mittel 66 μ /Tag), damit war sie in allen vier Zyklen deutlich höher als in der Proliferationsphase (im Mittel 54 μ /Tag). Der Grund ist in einer größeren Oestrogenausscheidung zu suchen, mit einem Tagesdurchschnitt von 21,5 μ in der Proliferationsphase gegenüber 30,5 μ in der Sekretionsphase. Die Oestradiolausscheidung (im Mittel 10 μ /T. in der P.Ph. gegenüber 9,5 μ /T. in der S.Ph.) und die Oestriolausscheidung (im Mittel 24 μ /T. in der P.Ph. gegenüber 26,5 μ /T. in der S.Ph.) zeigten in beiden Zyklusphasen nur geringe Unterschiede. In Fall V fehlte demgegenüber in allen drei Fraktionen das ovulatorische Maximum, auch der monophasische Verlauf der Basaltemperatur ließ auf einen anovulatorischen Zyklus schließen. Auffällig war hier das praemenstruelle Ansteigen der drei Oestrogene im Harn, mit weit über der Norm liegenden Werten. Die Preghandiolausscheidung war auch nur praemenstruell leicht positiv, was für das Vorliegen eines luteinisierten Follikels spricht.

V. Zusammenfassung.

Im allgemeinen Teil wurde über Entdeckung, chemische Struktur, Bildungsstätten, Wirkung und Stoffwechsel der Oestrogene berichtet. Es folgten Literaturangaben über bisherige Ergebnisse von Oestrogenuntersuchungen im Blut und im Harn bei der geschlechtsreifen Frau.

Anschließend wurde die Methodik der Oestrogengewinnung aus dem Harn besprochen und das angewandte Verfahren nach Brown zum Nachweis von Oestradiol, Oestron und Oestriol beschrieben. Eigene Untersuchungen über das Verhalten der 3 Oestrogenfraktionen im Harn in 5 Zyklen führten bei insgesamt 156 Analysen zu folgenden Ergebnissen: Bei 4 Zyklen, die sich aufgrund des Basaltemperaturverlaufes als normal herausstellten, fanden sich zunächst die bekannten Ausscheidungsmaxima vor der Ovulation und während des Blütestadiums des Corpus luteum.

Während sich an dem ovulatorischen Oestrogengipfel alle Fraktionen beteiligten (Oestradiol mit 11-54 μ , Oestron mit 20-68 μ und Oestriol mit 11-60 μ), war der luteale Anstieg nur beim Oestron (28-100 μ) oder Oestriol (20-92 μ) ausgeprägt. Zwischen den beiden Gipfeln lag eine Phase des Hormonabfalls, der dem Zeitpunkt des Follikelsprunges folgte.

Der Basaltemperaturanstieg begann 2-5 Tage nach dem ovulatorischen Oestrogengipfel und 0-2 Tage nach dem Abfall des Hormonspiegels im Harn.

Die mittlere Tagesausscheidung an Gesamtoestrogenen lag in der Sekretionsphase (40-84 μ) stets höher als in der Proliferationsphase (20-60 μ), im Mittel 66 μ gegenüber 54 μ .

Ein konstantes Verhältnis der einzelnen Fraktionen untereinander konnte weder während der Proliferationsphase noch während der Sekretionsphase beobachtet werden. Oestradiol wurde jedoch immer in geringerem Umfang als Oestron und Oestriol ausgeschieden.

Im letzten der untersuchten Zyklen (Fall V) war weder ein ovulatorischer Gipfel noch ein folgender Temperaturanstieg nachweisbar, die Basaltemperaturkurve verlief monophasisch. Es handelte sich also um einen anovulatorischen Zyklus.

Oestradiol, Oestron und Oestriol wiesen in der ersten Zyklushälfte ziemlich gleichbleibende Werte auf. Prämenstruell zeigte sich jedoch ein kontinuierlicher Anstieg aller 3 Fraktionen mit dem Höhepunkt am letzten Zyklustag. Es wurden dabei sehr hohe Mengen, nämlich 197 μ Oestradiol, 183 μ Oestron und 124 μ Oestriol im 24Stunden-Harn ausgeschieden. Der Gesamtoestrogenwert betrug 504 μ . Der anovulatorische Zyklus unterschied sich damit eindeutig von den normalen biphasischen Zyklen.

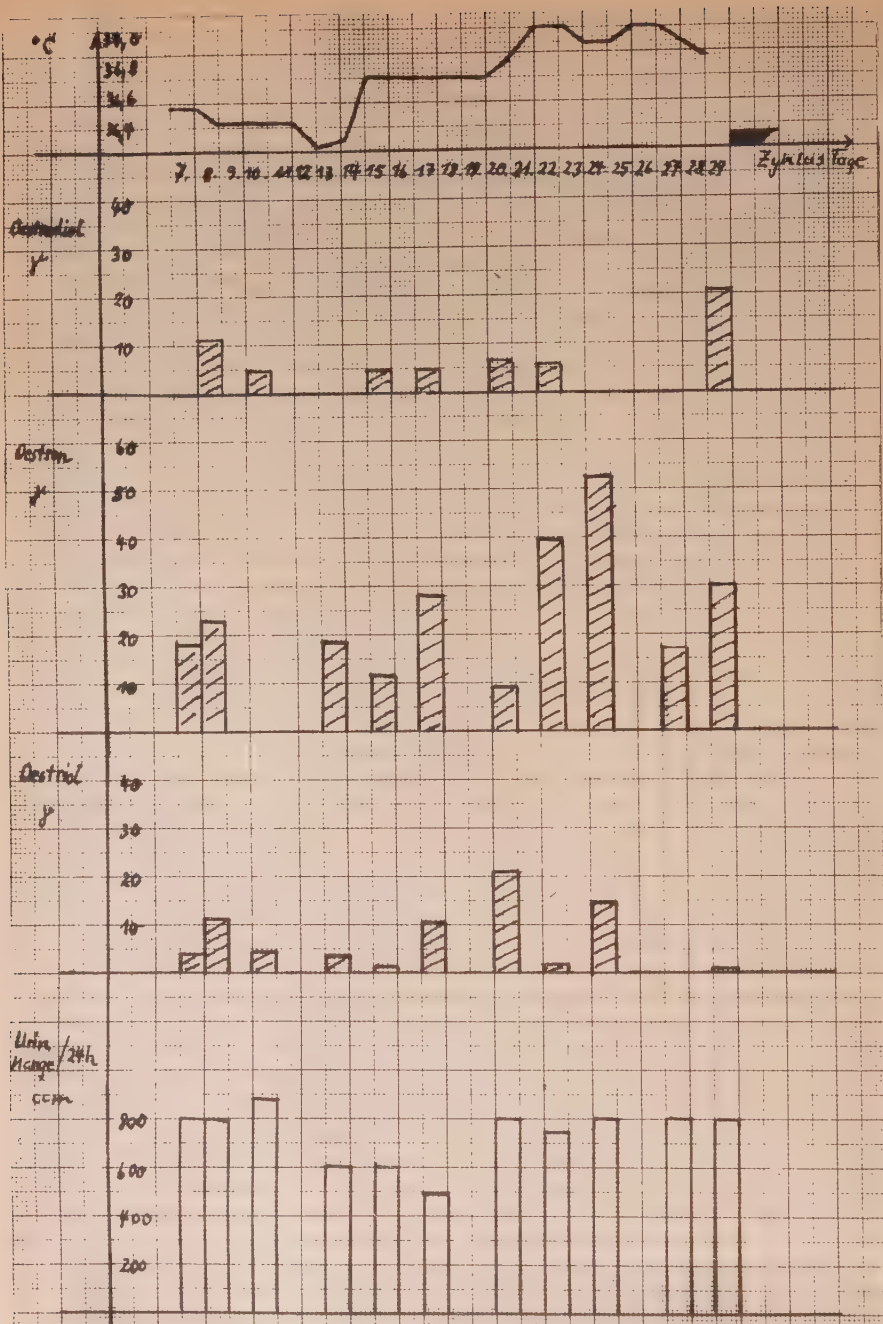


Abb. 1 Basaltemperatur und Oestradiol-, Oestron und Oestriolausscheidung: normaler Zyklus: 30/ 5-6 regelmäßig. 22 J. O-para.

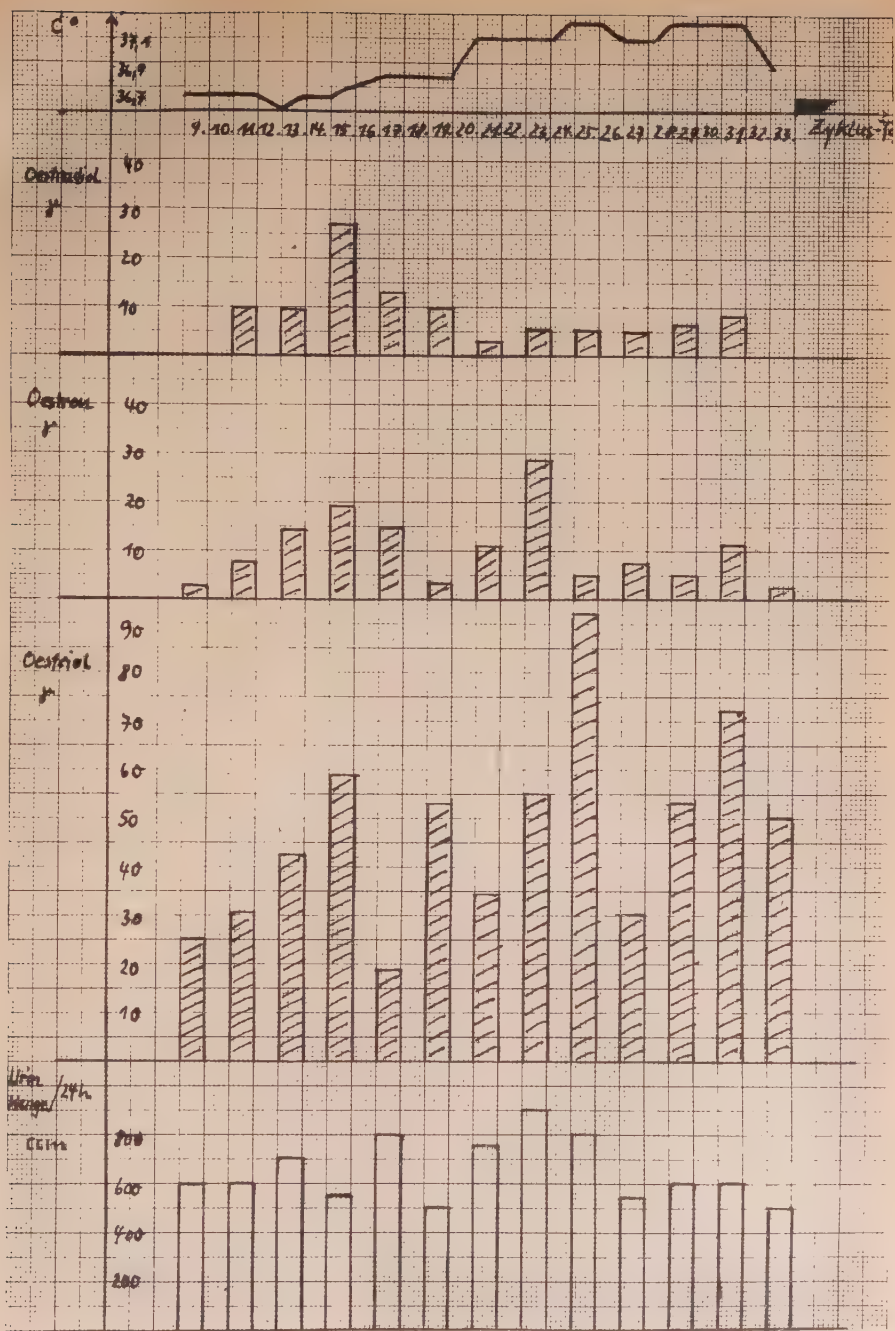


Abb. 2 Basaltemperatur und Oestradiol-, Oestron- und Oestriolausscheidung; normaler Zyklus: 30-33/5-6 regelmäßig. 24 J. O-para.

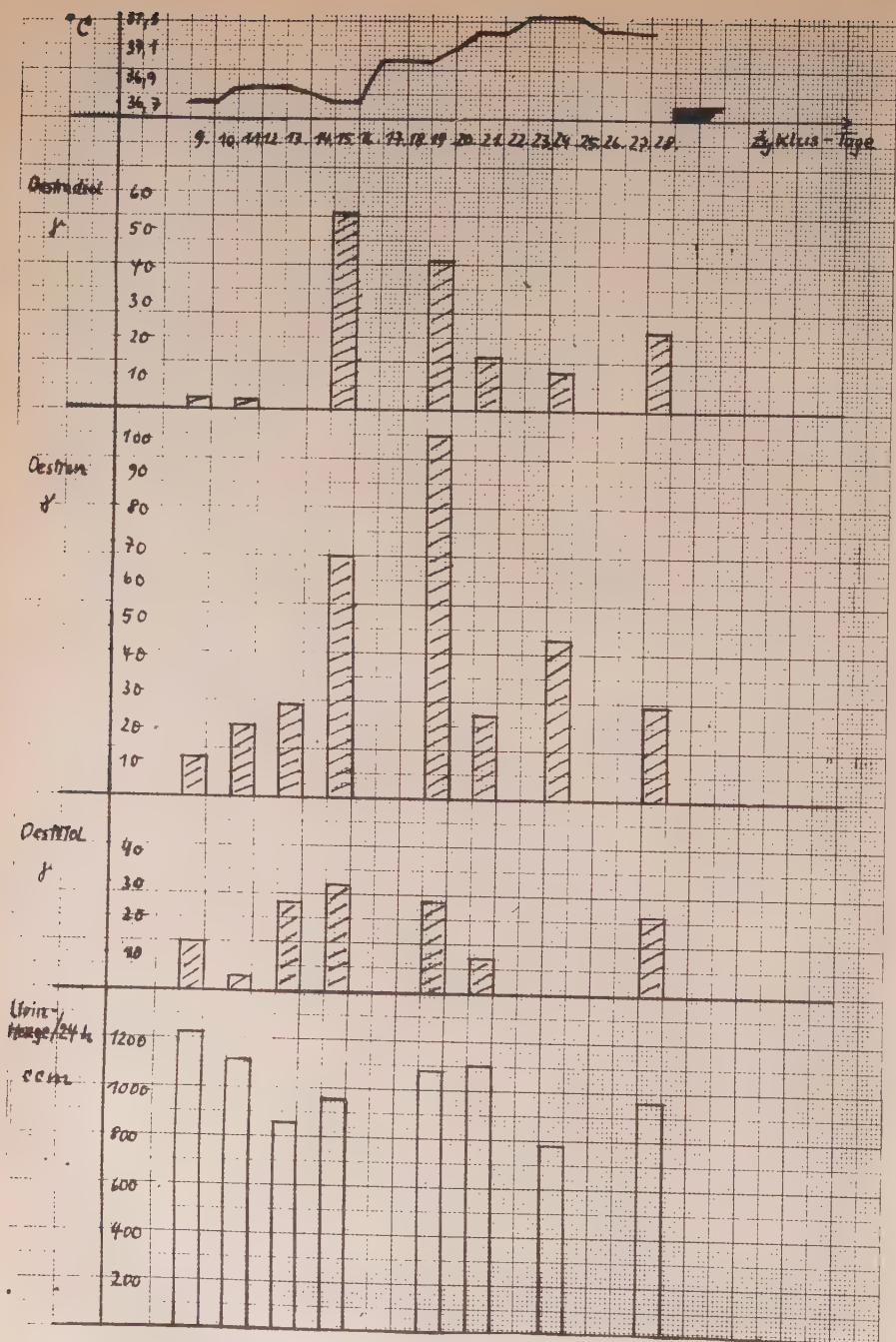


Abb.3 Basaltemperatur und Oestradiol-, Oestron- und Oestriolausscheidung; normaler Zyklus: 24-29/6-7 nicht ganz regelmäßig. 20 J.O.-para

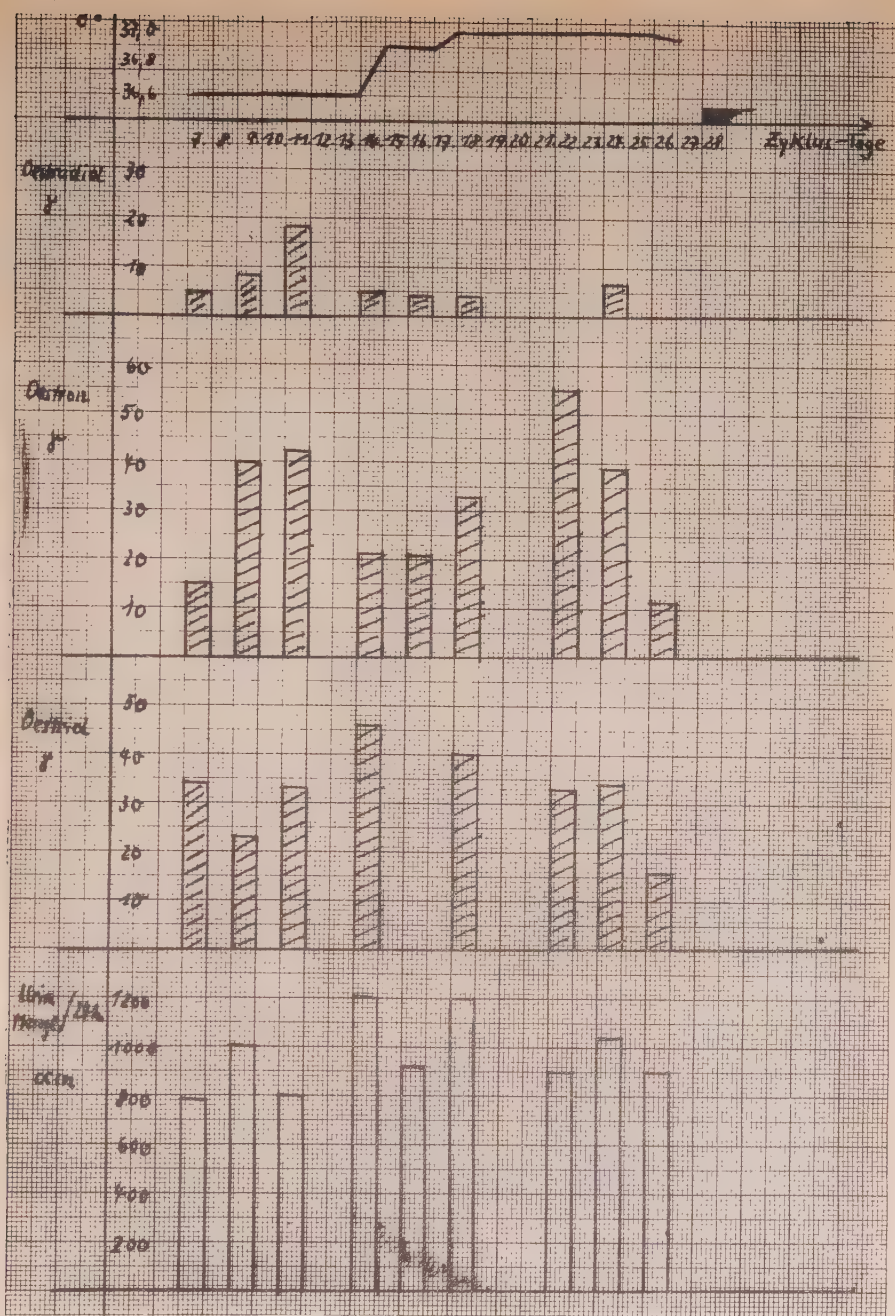


Abb. 4 Basaltemperatur und Oestradiol-, Oestron- und Oestriolausscheidung; normaler Zyklus: 26-29/4-5 regelmässig. 36 J. 3-para.

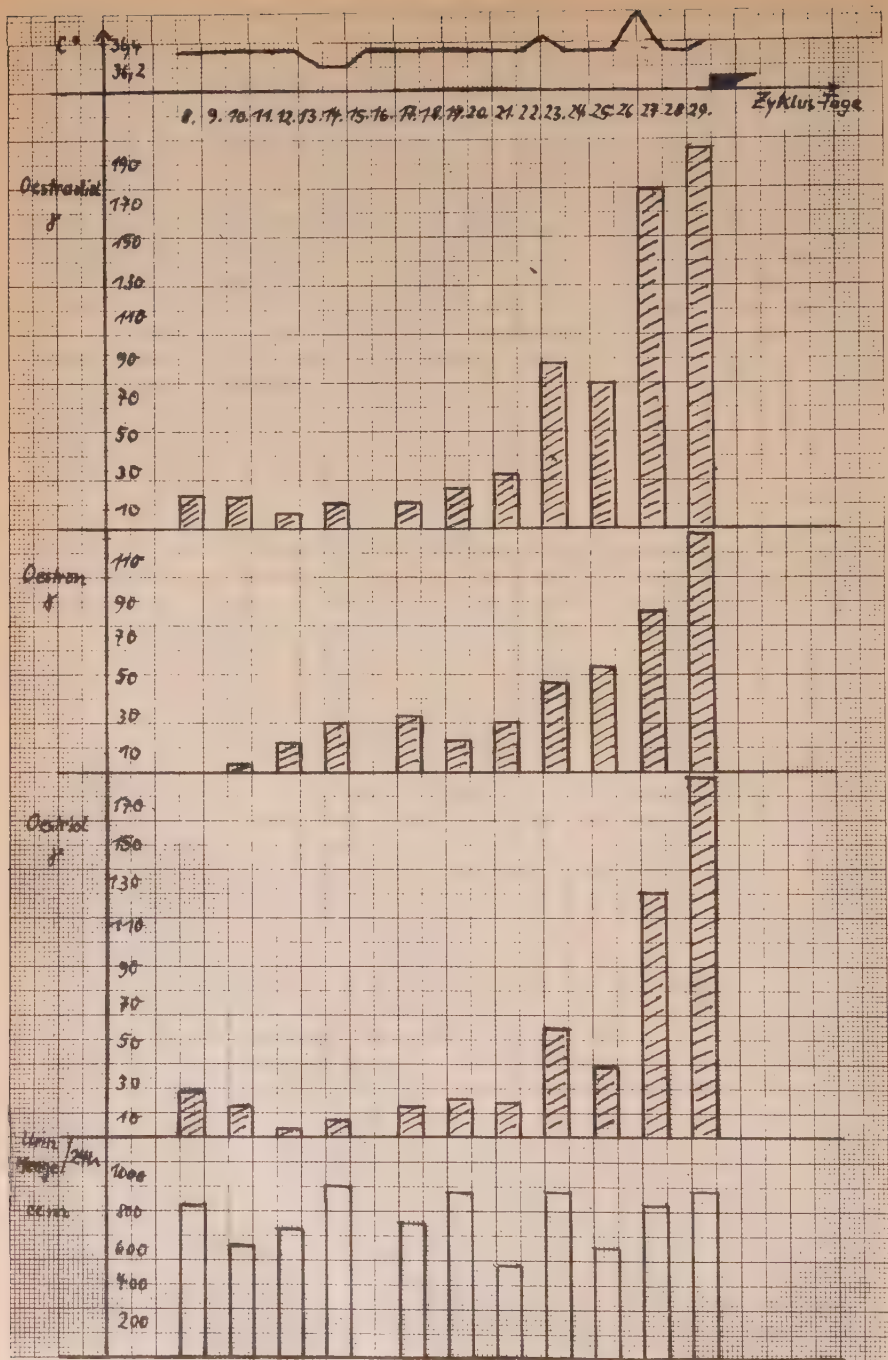


Abb. 5 Basaltemperatur und Oestradiol-, Oestron- und Oestriolausscheidung: anovulatorischer Zyklus: 28-35/unregelmäßig. 20 J. O-para.

VI. Literaturverzeichnis.

1. Allen, E.: J. Clin. Endocrin. 7, 10 (1950)
2. Allen, E. und E.A. Doisy: J. Amer. Med. Assoc. 81, 819 (1923)
3. Amour de, F.E.: J. Clin. Endocrin. 3, 41 (1943)
4. Ascheim, S. und B.Zondek: Klin. Wschr. 6, 1322 (1927)
5. Bachman, G.: J. of Biol. Chem. 131, 455 (1939)
6. Breitner, J.: Arch. Gynäk. 185, 258 (1954)
7. Breitner, J. und A.Eichstädter: Ärztl. Forschung 10, 457 (1954)
8. Breuer, H., W.Noche G.Geissler u. F.C.Mitchell: Klin. Wschr. 672 (1957)
9. Brown, J.B.: Biochem. J. 60, 185 (1955)
10. Brown, J.B.: Lancet 1, 320 (1955)
11. Brown, J.B.: Lancet 1, 704 (1956)
12. Brown, J.B.: Acta endocrin. 24 Suppl. 31, 29 (1957)
13. Brown, J.B.: J. of Endocrin. 17, 401 (1958)
14. Bulbrook, R.D., F.C.Greenwood und P.C.Williams: J. of Endocrin. 15, 206 (1957)
15. Butenandt, A.: Naturwissenschaften 17, 879 (1929)
16. Cantarow u. Trumper: Clin. Biochem. (1945)
17. Christiansen, E.G.: Dan. med. Bull. 3, 229 (1956)
18. Clayton, B.E.: J. Clin. Endocrin. 14, 815 (1954)
19. Cohen, S.L. und G.F.Marrian: Biochem. J. 28, 1603 (1934)
20. Cohen, S.L. und R.W. Bates: Endocrinology 166, 182 (1950)
21. Diczfalusy, E.: Acta endocrin. 24 Suppl. 31, 11 (1957)
22. Dingemans, E. und Laqueur: Nederl. Tijdschr. Geneesk. 328 (1940)
23. Doisy, E.A., C.D.Veler und S.A.Thayer: Amer. J. Physiol. 90, 329 (1929)

24. Dupraz, F.H.: Soc. franc. Gynec. 26,432 (1956)
25. Engel, Lewis L.: Cancer(Philadelphia) 10,711 (1957)
26. Evans, J.S., Varney
und F.C.Koch: J. Biol. Chem.(Am.)140 Proc. 38 (1941)
27. Finkelstein, M.: Proc.Soc.exper.Biol.a.Med.69,181(1948)
28. Fluhman, C.F.: Surg.Gyn.a.Obstetr. 60,330(1935)
29. Friedgood-Garst, H.B.
und J.B.Haagen-Smith: J. Biol. Chem. 174,522 (1948)
30. Geigy: Wissenschaftliche Tabellen (1953)
31. Gerli, M.: Ann. Obstetr. 11,1419(1951)
32. Gustavson, R.G., L.W.Mason Amer.J.Obstetr. 35,115 (1938)
E.E.Hays, Th.R.Wood u. F.d'Amour:
33. Heusghen, C. und W.Verly: Rapports 3. Reun.Endocrin. 139 (1955)
34. Humm, F.D., P.L.Munson
und W.T.Salter: J. Clin. Invest. 28,790(1949)
35. Jailer, J.W.: J. Clin.Endocrin. 8,564(1948)
36. Jayle, M.F.: Presse med. 18,377(1952)
37. Kaiser, R. und
A.Eichstädter: Arch. Gynäk. 185,726(1955)
38. Kaiser, R.: Klin. Wschr. 1/2, 15(1955)
39. Kaiser, R.: "Klin.und endokrin.Untersuchungen über
die Physiologie und Pathologie der Corpus-
luteum Funktion. Habilitationsschrift München(1958)
40. Kaiser, R.: Dtsch. Med. Wschr. 38,1673(1958)
41. Keller, M.: Gynaecologia 136,358 (1953)
42. Kober, S.: Biochem. J. 32,357 (1940)
43. Lawrence und Werthusen: Endocrinology 27,755 (1940)
44. Leuthardt, F. und
T.H. Koller: Mschr. Gebh. 118, 1(1944)
45. Marquardt, F. und
K.Repke: Arch.exper.Path. u. Pharm.224,341(1955)
46. Marrian G.F.: Biochem. J. 24,435(1930)
47. Marrian, G.F.: Cancer 10,704(1957)
48. Mayer, Ch.: Brux. Med. 31,32 (1951)

49. Nakao, T. und
J. Aizawa: Endocrin. jap. 3, 92 (1956)
50. Napp, J.H. : Acta endocrin. 24 Suppl. 31, 48 (1957)
51. Pearlman, W.H.: The Hormon New York (1949)
52. Preedy, J.R. und
E.A. Aitken : Lancet I 191 (1957)
53. Pschyrembel, W. und
G.H. Halder : Vitamine u. Hormone 8, 42 (1958)
54. Puck, A. : Acta endocrin. 22, 191 (1956)
55. Puck, A. und
K. Hübner: Klin. Wschr. 808 (1957)
56. Ruppel, W. und
L. Weissbecker: Acta endocrin. 10, 29 (1952)
57. Ryan, K. J. und
L. Engel: Endocrinology 52, 277 (1953)
58. Siebke, H.: Zbl. Gynäk. 1601 (1930)
59. Smith, O.W., G.W. Smith
und G. Pincus : Amer. J. Physiol. 121, 98 (1937)
60. Smith, O.W., G.W. Smith
und S. Schiller : Amer. J. Obstetr. 45, 15 (1943)
61. Stevenson, R. und
G.F. Marrian : Biochem. J. 41, 507 (1947)
62. Stimmel, B. und
C. Stearly : J. Clin. Endocrin. 12, 489 (1952)
63. Tagnon, J.H., S. Lieberman
P. Schulman u. A. Brunschwig: J. Clin. Invest. 31, 346 (1952)
64. Talbot, N., B. Wolfe
Mc. Lachlan und Butler: J. Biol. Chem. 134, 319 (1940)
65. Varangot, J. Seeman
und L. Cedard : S. Hop./Path. Biol./Ann. Rech. med. (1957)
66. Vozza, F. und
F.E. Mansani : Ann. Obstetr. Gynec. 79, 1225 (1958)
67. Walaas, O., E. Walaas
und F. Loken : Acta endocrin. 11, 61 (1952)
68. Werner, S.C.: J. Clin. Invest. 20, 21 (1941)
69. Wintersteiner und
Hirschman : J. Biol. Chem. (Am) 119, 6 VII (1937)

Am Ende dieser Arbeit möchte ich Herrn Professor Dr. med. W. Bickenbach danken, daß ich die Arbeit an seiner Klinik durchführen durfte. Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Privatdozent Dr. med. R. Kaiser für die Überlassung des Themas und seine rege Anteilnahme an der Arbeit.

Fräulein Rogowski, die mir bei der praktischen Laborarbeit wertvolle Ratschläge geben konnte, danke ich ebenso wie den Schülerinnen der Hebammenschule, die sich für die Untersuchungen freundlicherweise zur Verfügung gestellt haben.

Lebenslauf.

Am 10. Oktober 1934 wurde ich als Tochter des Pfarrers Theodor Zeller und seiner Frau Agathe, geb. Teufel, in Stuttgart geboren.

Ich besuchte 4 Jahre lang die Volksschule in Bönningheim. 1954 trat ich in die Oberschule für Jungen in Bönningheim ein. Von der sechsten Klasse an besuchte ich die Goethe-Oberschule in Ludwigsburg, wo ich 1954 das Abitur ablegte.

Anschließend arbeitete ich 1 Jahr lang als Werkstudentin.

Im Sommersemester 1955 begann ich das Medizinstudium in Tübingen. Dort legte ich im Sommer 1957 das Physikum ab.

Während der klinischen Semester habe ich in Berlin, Wien und seit 1958 in München studiert. Hier beendete ich mein Studium im Winter 1960/61 mit der ärztlichen Prüfung.

